

## 典型链格孢霉毒素的污染现状与毒理学性质研究进展

杨玉莲<sup>1</sup>, 周鸿媛<sup>1,2</sup>, 刘虫虫<sup>1</sup>, 张宇昊<sup>1,2</sup>, 马良<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup> 西南大学食品科学学院 重庆 400715

<sup>2</sup> 川渝共建特色食品重庆市重点实验室 重庆 400715)

**摘要** 链格孢霉毒素是链格孢霉菌产生的次级代谢产物,在谷物、果蔬、坚果、油料作物等农作物和农产品中污染广泛,对人和动物有不同程度的急性毒性、遗传毒性、生殖发育毒性等,然而,现有的污染水平、膳食暴露量及毒效应等资料有限且研究系统性不强,安全风险评估的理论支撑薄弱。基于此,本文系统梳理了典型链格孢霉毒素的污染现状及其毒理学性质,旨在为进一步评估其暴露水平,开展安全性评价,科学制定限量标准与法规提供较为全面、系统的理论依据。

**关键词** 链格孢霉毒素; 污染; 限量; 毒代动力学; 毒性作用

**文章编号** 1009-7848(2023)03-0376-14 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2023.03.038

链格孢霉毒素(*Alternaria toxins*)是链格孢霉菌(*Alternaria species*)产生的有毒次级代谢产物,根据结构不同可分为五大类:1)二苯- $\alpha$ -吡喃衍生物,如交链孢酚(Alternariol, AOH)、交链孢酚单甲醚(Alternariol monomethyl ether, AME)、交链孢烯(Altenuene, ALT)等;2)四氨基酸衍生物,如细交链孢菌酮酸(Tenuazonic acid, TeA)和异细交链孢菌酮酸(iso-Tenuazonic acid, iso-TeA);3)茛菪及其衍生物,如交链孢毒素(Altertoxin I, II, III, ATXs)、ALP (Alterperyleneol) 毒素、STTX-I 和 STTX-III (Stemphytoxin I, III)毒素;4)氨基戊醇酯类化合物,如 AAL 毒素(*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxins),包括 AAL-TA 和 AAL-TB;5)杂环类化合物,如腾毒素(Tentoxin, TEN)<sup>[1-2]</sup>。因链格孢霉菌适宜的生长温度(4~35℃)和水分活度(0.88~0.99)范围广,且极易在潮湿的环境中感染抗性较弱的农作物并生长、产毒,故链格孢霉毒素污染范围广,污染程度高<sup>[3]</sup>。目前,在谷物及其制品、果蔬及其制品、油料作物及其制品等中常有链格孢霉毒素检出。其中,小麦和番茄受污染最为严重<sup>[4]</sup>,在意大利、中国等地的番茄样品中阳性率甚至高达 100%<sup>[5-6]</sup>。此外,橄榄<sup>[7]</sup>、柑橘<sup>[6]</sup>、苹果<sup>[8]</sup>、葡萄<sup>[9]</sup>、

甜椒<sup>[10]</sup>、无花果<sup>[11]</sup>、食用油<sup>[12]</sup>、葡萄酒<sup>[13]</sup>等也偶有检出。研究表明,链格孢霉毒素主要在肠道被吸收,具有急性毒性、细胞毒性、遗传毒性、致癌性等,可通过食物链富集在人和动物体内而危害健康<sup>[14]</sup>。链格孢霉毒素因污染广泛且存在毒性作用,故被确认为威胁人类和动物健康的重要风险因子,也是影响农产品经济价值和食品安全的潜在问题之一。

基于此,欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)于 2011 年首次对食品和饲料中存在的链格孢霉毒素展开安全评估,并建议将其列为公共卫生需高度关注的问题之一<sup>[4]</sup>。EFSA 根据现有的饮食暴露数据认为, AOH、AME、TeA、TEN、ALT 应作为食品中需高度关注的链格孢霉毒素,并建议使用毒性学关注阈值(threshold of toxicological concern, TTC)评估其对机体健康的影响程度。随后,EFSA 根据现有的食品消费数据(19 个国家,35 种饮食调查)建立了欧洲食品消费综合数据库,并对成年人(18~65 岁,共 30 788 人)进行了膳食暴露评估,结果发现链格孢霉毒素的平均慢性膳食暴露可能已超过相应的 TTC 值<sup>[15]</sup>。2016 年,EFSA 向各相关方收集链格孢霉毒素在食品和饲料中的污染数据,以考虑设定其在食品中的安全限量。然而,目前评估链格孢霉毒素的膳食暴露方法是基于代表性食品污染数据与食品消费数据相结合,忽略了食品基质的多样性,人群对食品消费量的不确定性,毒代动力学和生物利用度的差异性等影响因素。世界范围内对链格

收稿日期: 2022-06-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001810, 32072137, CSTB2022NSCQ-MSX1157)

第一作者: 杨玉莲,女,硕士生

通信作者: 马良 E-mail: zhyhml@163.com

孢霉毒素的毒理学数据和风险评估都十分有限,相关限量标准和法规也极为缺乏。

1 链格孢霉毒素的污染与限量标准

1.1 链格孢霉毒素的污染情况

链格孢霉菌广泛存在于空气和土壤中,95%以上为兼性寄生菌,在田间、运输及贮藏过程中可通过入侵农作物气孔、皮孔、表皮微裂孔而寄生产毒<sup>[6]</sup>。2016 年,EFSA 对来自欧洲的 7 916 份食物样本进行检测分析,将受链格孢霉毒素污染的样品分为 15 大类,即谷物及其制品、蔬菜及其制品、含淀粉的根茎和块茎、坚果豆类和油籽、水果及其制品、乳制品、糖、动植物油、果蔬汁、酒精饮料、香辛料和调味品、婴幼儿食品、特殊营养食品、速食、零食甜点,其中谷物、番茄及其制品、水果和坚果的污染水平相对较高<sup>[15]</sup>。

TeA 是链格孢霉菌自然侵染宿主后产生的主要毒素,也是污染水平最高的链格孢霉毒素<sup>[7]</sup>。在四川省的 264 份小麦及其制品中 TeA 的检出率高达 97.7%,污染量为 1.29~111.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[17]</sup>。在甜椒<sup>[10]</sup>、葵花籽<sup>[11]</sup>、啤酒<sup>[18]</sup>中 TeA 的检出率均超过 80%。因食品干制过程会造成 TeA 富集,故 TeA 在

果蔬类干制品、坚果中也有较高的污染量。如 Marianna 等<sup>[5]</sup>在意大利一批样品中发现新鲜番茄( $n=8$ )的平均污染量为 0.81  $\text{mg}/\text{kg}$ ,而番茄干( $n=10$ )的最高浓度可达 81.59  $\text{mg}/\text{kg}$ ,样本量相对较少。AOH 和 AME 因具有亲脂性而更易污染油料作物<sup>[19]</sup>,其中油籽和植物油是其主要污染物<sup>[15]</sup>。Bansal 等<sup>[12]</sup>在 100 份印度常用食用油中检测到 AOH 和 AME 的阳性率分别为 34%和 35%,其中葵花油的检出率最高(50%),大豆油的污染水平最高(2.78~1 421.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )。小粒谷物中也常有 AOH 和 AME 检出。例如,在挪威的 20 份小麦、28 份燕麦和 28 份大麦样品中,AOH 和 AME 的阳性率均在 80%以上,并且燕麦中 AOH 的最高浓度可达 449  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[20]</sup>。在欧洲的 99 份小麦和 106 份大麦样品中,AOH 和 AME 的阳性率分别高达 98%和 99%<sup>[15]</sup>。在斯洛文尼亚的 433 份谷物样品中,AOH 和 AME 的平均含量可达 156  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 153  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[21]</sup>。不仅如此,AOH 和 AME 在番茄酱<sup>[6]</sup>、苹果酱<sup>[8]</sup>、樱桃罐头<sup>[22]</sup>、葡萄酒<sup>[23]</sup>等果蔬制品中也有少量检出,污染水平低于 TeA。此外,在谷物制品、果蔬制品中偶有 TEN 和 ALT 检出,污染量相对较低。典型链格孢霉毒素在食品基质中的污染情况详见表 1。

表 1 典型链格孢霉毒素在食品中的污染情况

Table 1 Contamination of typical <i>Alternaria</i> toxins in foodstuffs					
食品基质	毒素	样本数( $n$ )	检出率/%	污染量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	参考文献
小麦及其制品	AOH	292	87.33	0.50~305	[17],[20],[24]
	AME	292	92.81	0.15~10.8	
	TeA	292	81.85	0.50~111	
	TEN	330	85.15	0.10~57.7	
	ATX- I	28	96	<15.7	
大麦	AOH	60	80.77	368~1 689	[20],[25]
	AME	60	14.71	384~6 812	
	TeA	60	36.4	633~3 678	
	TEN	20	25	<0.4	
燕麦	AOH	69	81.16	23~449	[4],[20]
	AME	69	86.96	4.3~177	
	TeA	69	86.96	26~82	
	TEN	69	89.86	1.0~3.6	
	ATX- I	28	96	<36.1	
杂谷	AOH	271	90.04	1.37~256	[4],[26]
	AME	271	92.99	0.23~86	
	TeA	271	88.19	6.15~851	
	TEN	271	93.73	0.21~38	
	ALT	6	16.7	<4.47	

(续表 1)

食品基质	毒素	样本数( <i>n</i> )	检出率/%	污染量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	参考文献
番茄及其制品	AOH	111	17.11	2.5~8756	[5],[6],[11],[27]
	AME	49	69.39	0.32~42	
	TeA	172	56.98	5.0~81 592	
	TEN	31	83.9	1.53~15.8	
	ALT	28	50	<6.1	
甜椒及其制品	AOH	15	83.33	1.6~1 110.8	[10]
	AME	8	75	<35.7	
	TeA	38	100	4.3~8 248.5	
	ALT	15	93.33	<139.9	
鸡蛋及其制品	AME	5	40	0.72~1.31	[28]
坚果	AME	36	91.67	1.1~17.5	[11],[15]
	TeA	10	80	5.0~1350	
植物油	AOH	95	35.79	5.18~938.3	[12],[29]
	AME	95	36.84	2.78~1 421.8	
	TEN	7	28.57	1.8~3.4	
柑橘	TeA	36	25	1.21~4.31	[6]
樱桃及其制品	AOH	83	51.81	0.01~4.57	[22]
	AME	83	34.94	0.07~2.22	
	TeA	83	75.90	0.21~236.58	
	ALT	83	31.32	0.08~0.22	
	TEN	83	53.01	0.01~0.71	
无花果干	AOH	22	95.45	6.9~13	[4],[11]
	TeA	36	44.44	41~1728	
葡萄酒	AOH	52	63.46	0.66~28.86	[4],[23]
	AME	47	74.47	0.03~18.05	
	TeA	13	100	<7.5	
啤酒	TeA	93	81.72	0.69~16.5	[4],[18]
果蔬汁	AOH	299	87.29	0.43~2.7	[4],[8],[30]
	AME	276	97.10	0.02~1.3	
	TeA	235	94.04	2.4~20.60	
	ALT	10	10	< 45.6	

注:杂谷指供人类食用而未明确分类的谷物。

由于一种链格孢霉菌可能产生多种链格孢霉毒素,因此在同一食品基质中常有不同的链格孢霉毒素共存。Castaares 等<sup>[25]</sup>在大麦样品(*n*=60)中检测到 AOH-TeA 共存率为 31.67%。Ji 等<sup>[31]</sup>在婴幼儿谷物食品(*n*=820)中检测出 AOH-TeA、AME-TeA 共存率分别为 5.6%,4.3%。何玲等<sup>[17]</sup>发现小麦及其制品(*n*=264)中 AOH-AME-TeA-TEN、AME-TeA-TEN、AOH-TeA-TEN、TeA-TEN 和 AME-TEN 的共存率分别为 48.1%,36.0%,47.3%,97.7%和 86.0%,其中 AOH 与 AME、TeA 与 TEN 的

Spearman 相关系数分别为 0.507,0.744,表明其共存的相关性较强。不仅如此,Li 等<sup>[8]</sup>在腐烂苹果中发现有 5 种链格孢霉毒素(AOH、AME、TeA、ALT、TEN)共存,而 Puntscher 等<sup>[32]</sup>在番茄酱、葵花籽油、小麦粉中发现共存的链格孢霉毒素(AOH、AME、TeA、ALT、TEN、ATX-I、ALP)甚至高达 7 种。目前,有关链格孢霉毒素在食品中的暴露数据多为单一毒素,当与有害化学物质共存时,受暴露剂量、作用靶点、毒性机制等影响,产生协同或拮抗作用,从而改变毒性。因此在普查链格孢霉毒素的

污染水平时不能忽略其共存的情况。

## 1.2 链格孢霉毒素的暴露水平和限量标准

饮食习惯、个体差异等因素导致不同人群或个体的链格孢霉毒素暴露水平不同。根据 EFSA 的慢性饮食暴露调查评估,婴幼儿和素食主义者因大量摄食谷物类食品,故链格孢霉毒素的饮食暴露风险较高,又因婴幼儿营养摄入单一且机体代谢能力较低而成为暴露水平最高的人群<sup>[15,31]</sup>。近期,在 2 212 份北京成年人尿液样本中发现,超过 98% 的样本中至少含有 1 种链格孢霉毒素,AME 的检出率最高(96.0%),其次是 TeA(70.5%),表明我国人群因膳食途径而接触链格孢霉毒素<sup>[33]</sup>。目前,因缺乏全面的毒理学数据,链格孢霉毒素在食品与饲料中的限量标准与法规仍未颁布,我国仅在 2015 年 5 月发布了《出口水果、蔬菜中链格孢霉毒素的测定 液相色谱-质谱/质谱法》,规定在部分果蔬中 AOH、AME、TEN、ALT 的定量限为 0.01 mg/kg。基于目前的风险评估数据,EFSA 规定具有遗传毒性的 AOH 和 AME 的 TTC 值为 2.5 ng/kg bw/d,非遗传毒性毒素 TeA 和 TEN 的 TTC 值为 1 500 ng/kg bw/d<sup>[6]</sup>,并指出欧洲人群 AOH 和 AME 的每日摄入量可能严重超过 TTC 值<sup>[15]</sup>。2019 年 6 月,欧盟委员会制定了关于 AOH、AME、TeA 的建议草案,提出在番茄制品、芝麻、葵花籽、葵花油以及婴幼儿谷物制品中 AOH 和 AME 的基准设定为 5~30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,TeA 为 100~500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[14]</sup>。然而,建议基准设定值并不能完全等同于食品的安全基准值,今后还需持续关注慢性膳食暴露对人类健康的影响。

## 2 链格孢霉毒素的毒代动力学

链格孢霉毒素进入人和动物体后,会穿过肠道屏障进入血液循环到达靶器官,其毒性作用受体内吸收、分布、代谢和排泄(ADME)过程的影响,因此开展链格孢霉毒素的毒代动力学研究对评估其潜在靶器官和相关安全浓度至关重要。目前有关链格孢霉毒素毒代动力学的研究报道还较为缺乏,仅涉及 AOH、AME、ALT、ATX-II、STTX-III 和 TeA<sup>[1]</sup>,且并不全面,相关代谢途径如图 1 所示。

### 2.1 AOH、AME、ALT 的毒代动力学

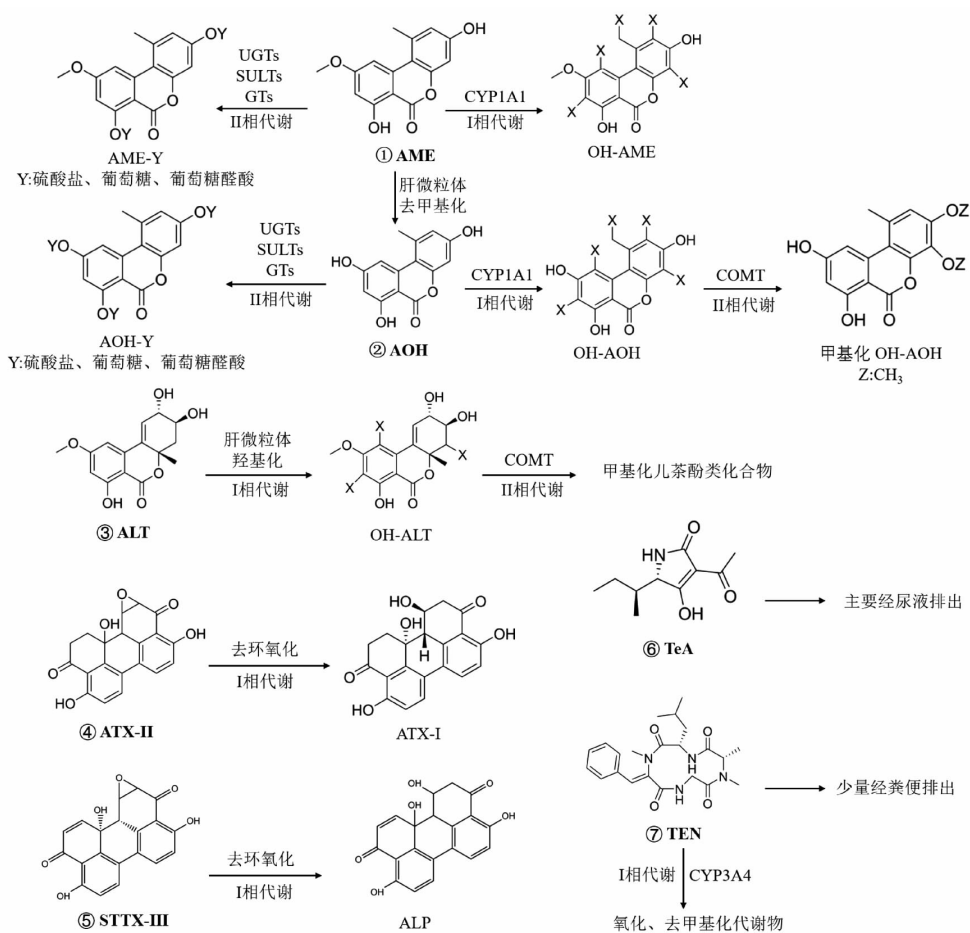
体外 Caco-2 细胞跨膜转运试验表明,20

$\mu\text{mol}/\text{L}$  的 AOH 和 AME 作用 3 h 后细胞吸收率分别为 25.8%,7.1%,并且在肠道细胞中的吸收和转运均与浓度呈正相关<sup>[34]</sup>。进入机体后,AOH 和 AME 会激活 CYP450 家族 I 相代谢酶,在 C-2、C-4、C-8、C-10 处引入羟基基团(-OH),从而降低其亲脂性和细胞吸收率。经 II 相代谢后,AOH 和 AME 可与葡萄糖苷/硫酸盐共价结合,AOH 代谢为 AOH-3-葡萄糖苷(AOH-3-G)、AOH-7-葡萄糖苷(AOH-7-G)、AOH-9-葡萄糖苷(AOH-9-G)、AOH-9-二葡萄糖苷(AOH-9-DG),AME 代谢为 AME-3-葡萄糖苷(AME-3-G)、AME-3-丙二酰基葡萄糖苷(AME-3-MG)、AME-3-硫酸盐(AME-3-S)等<sup>[35-37]</sup>。Schuchardt 等<sup>[38]</sup>发现,AOH 主要在 NMRI 小鼠的胃肠道被吸收,24 h 后约 90% 从粪便排出,9% 从尿液排出,血液中检出率不超过 0.06%,在粪便中检测到 4 种 I 相代谢产物(2-/4-/8-/10-OH-AOH),检出率为 85%~91%。血液中则有 3 种 I 相代谢产物(2-/4-/10-OH-AOH)。与之不同,Puntscher 等<sup>[2]</sup>发现 AOH 和 AME 在 SD 大鼠尿液中的排泄率相近(6%~10%),粪便中 AME 含量较高(87%),而 AOH 较低(9%)。由此可知,AOH 和 AME 大多以原型或通过引入亲水性基团增加排泄率而被排出体外,其吸收和代谢除了受机体酶的影响外,还受品系、物种或个体差异的影响。就 ALT 而言,一部分可在机体 I 相代谢时,在 C-4、C-8、C-10 位引入-OH,促进其代谢;另一部分还可通过与肠道微生物相互作用而被排出体外,其吸收和排泄情况尚不清楚<sup>[39-40]</sup>。

### 2.2 ATX-II 和 STTX-III 的毒代动力学

ATX-II 和 STTX-III 可经 I 相代谢去环氧化,分别生成 ATX-I 和 ALP<sup>[41]</sup>。Fleck 等<sup>[42]</sup>发现,在 Caco-2 细胞跨膜转运试验中 ATX-I 和 ALP 的细胞吸收率和肠道渗透性均比其原型毒素高。此外,Puntscher 等<sup>[2]</sup>在体内实验中发现,SD 大鼠食用含有 ATX-II 和 STTX-III 的复合饲料后,其尿液和粪便中均检测到代谢物 ATX-I (0.5%~15%) 和 ALP(0.2~3%),而经  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶/芳基硫酸酯酶处理后,ATX-I 和 ALP 分别增加了 25% 和 14%,检测不到其原型毒素。综上表明,ATX-II 和 STTX-III 在肠道中的吸收性较差,主要经机体 I 相代谢提高其亲水性和吸收率以后以代谢物的形式





注:1. UGTs:尿苷-5,-二磷酸葡萄糖醛酸转移酶;2. SULTs:硫酸基转移酶;3. GTs:糖基转移酶;4. COMT:儿茶酚氧位甲基转移酶;5. CYP1A1,CYP3A4:细胞色素 P450 酶。

图 1 链格孢霉毒素的代谢途径<sup>[1]</sup>

Fig.1 Metabolism pathway of *Alternaria* toxins<sup>[1]</sup>

被排出,或经 II 相代谢以共轭物形式被排出,具体的 II 相代谢途径还需进一步探究。

### 2.3 TeA 的毒代动力学

迄今为止,还未有关于 TeA 在体内代谢的相关报道。现有研究表明,TeA 的生物利用度较高,受共消化食物成分和肠道微生物的影响较小,在 Caco-2 细胞中易被吸收,其转运速度受浓度和时间的影响较小,进入机体后主要在胃肠道被吸收,大部分经尿液排出,6 h 和 24 h 的尿液排泄率分别为 54%~81%,87%~93%<sup>[2,34,43-44]</sup>。

## 3 链格孢霉毒素的毒性作用

### 3.1 AOH 和 AME 的毒性作用

AOH 和 AME 在体内、外都有明显的毒性。小

鼠实验表明,AOH 和 AME 可引起小鼠发育不良、体重降低、呼吸困难、胃痉挛、内脏坏死等<sup>[45-47]</sup>。体外试验表明,AOH 和 AME 的细胞毒性在不同的哺乳动物细胞系中呈高度的异质性,这为有效预测 AOH 和 AME 的靶器官及其毒性机制提供了基础。在人结肠癌细胞(Caco-2, 3.125~100 μmol/L; HT-29, 25~50 μmol/L; HCT116, 10~200 μmol/L)、人肝癌细胞(HepG2, 10~50 μmol/L)、人食管鳞癌细胞(KYSE510, 1~50 μmol/L)、仓鼠肺细胞(V79, 5~20 μmol/L)、小鼠巨噬细胞(RAW 264.7, 15~30 μmol/L)中,AOH 和 AME 会抑制细胞活性,损伤细胞正常形态,均有剂量-效应关系,其毒作用机制与细胞氧化应激、抗氧化防御失衡有关<sup>[48-52]</sup>。AOH 和 AME 可作为细胞色素 P450 酶(CYP450)

的作用底物,依赖芳香烃受体(AhR)影响 CYP1A1 的正常表达,活化转录因子 Nrf2,刺激 Nrf2 与细胞核内的 ARE 特异性结合,启动荧光素酶表达,促进活性氧(ROS)产生,并通过线粒体途径改变线粒体通透性转换孔(PTP)和线粒体膜电位(MMP),降低线粒体活性,激活半胱氨酸蛋白酶(caspase-3/-9),促进 p53 和 Bcl-2 基因表达,使细胞周期停滞在 G2/M 或 S 期,诱导细胞凋亡<sup>[49-50,53-54]</sup>。不仅如此,AOH 和 AME 是最早被发现具有遗传毒性的链格孢霉毒素,因为 AOH 和 AME 可以充当 DNA 拓补异构酶 I 和 II 的抑制剂,阻碍拓补异构酶在 DNA 复制和转录过程中的释放,稳定 DNA-拓补异构酶复合物,抑制 DNA 松弛化,刺激 DNA 双链断裂和微核产生<sup>[55-56]</sup>。AOH 和 AME 还可直接与 NIH/3T3 细胞的 DNA 结合,激活 *c-ras*、*c-mys* 等致癌基因,引起细胞恶性增殖,产生潜在致癌性<sup>[57]</sup>。此外,因 AOH 结构与天然雌激素相似而具有生殖发育毒性,AOH 能与雌激素受体(ER)结合,激活 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$ ,影响 CYP1A1、HSD3B、p450scc 等酶的正常表达,促进胆固醇和雄烯二酮分别转化为孕稀酮醇和雌二醇,并使其含量提高 2~3 倍,引起类固醇激素代谢紊乱,影响胚胎从受精卵到囊胚期的发育,最终导致胚胎退化,胎重降低<sup>[1,58-59]</sup>。除上述主要毒性外,AOH 和 AME 还会干扰机体免疫系统,可通过 NF- $\kappa$ B 通路抑制树突状表面受体蛋白(CD11b、CD80、CD86)、炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8)、基质金属蛋白酶(MMP-2、MMP-9)的表达,影响单核细胞(THP-1,10~60  $\mu$ mol/L)向巨噬细胞分化以及巨噬细胞(RAW 264.7,15~30  $\mu$ mol/L; THP-1,7.5~15  $\mu$ mol/L)的黏附、迁移、吞噬等功能,从而破坏机体屏障,导致免疫失调<sup>[52,60-62]</sup>。另外,AOH(50~500 nmol/L)还可诱导环氧酶-2(COX-2)表达以及前列腺素 E2(PGE2)的分泌,增加 EP2 受体与环磷酸腺苷偶联,激活 cAMP/p-CREB 信号通路,引起炎症反应<sup>[63]</sup>。

因同一食品基质中可能有多种链格孢霉毒素共存的情况,故 AOH 和 AME 的联合毒效应同样值得关注。AOH 和 AME(1:1)联合处理 HCT-116 人结肠癌细胞(25  $\mu$ mol/L)、Caco-2 人结直肠腺癌细胞(3.125~30  $\mu$ mol/L)24 h,其联合毒性作

用因染毒剂量的不同而表现为加和或协同作用<sup>[48,64]</sup>。另外,在 Ishikawa 人子宫内膜癌细胞为模型的体外试验中,当 AOH 与双酚 A、玉米赤霉烯酮和  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇分别以 5:1,500:1 和 250:1 比例混合作用细胞时,类雌激素效应均呈协同增强趋势<sup>[65-66]</sup>。

### 3.2 TeA 的毒性作用

TeA 有明显的急性毒性,体外试验表明 TeA 可抑制小鼠胚胎细胞(NH/3T3,12.5~400  $\mu$ g/mL)、仓鼠肺细胞(CHL,12.5~400  $\mu$ g/mL)、人肝细胞(LO-2,12.5~400  $\mu$ g/mL)、Caco-2 细胞(200~250  $\mu$ mol/L)的细胞活力,并呈剂量-效应关系<sup>[67-68]</sup>。动物实验表明,TeA 可导致大鼠呕吐、腹泻、出血,甚至死亡,其 LD<sub>50</sub> 为 76~162 mg/kg bw(静脉注射)和 81~209 mg/kg bw(灌胃),也会引起狗、猴子胃肠道出血等,其作用机制与 TeA 可抑制核糖体活性,阻碍蛋白质的合成和释放有关<sup>[69-70]</sup>。此外,TeA 还有一定的潜在致癌性,Swiss 小鼠连续每天口服低剂量 TeA(25 mg/kg bw/d)3 个月后体重明显降低,10 个月时可观察到食管黏膜细胞出现癌前病变<sup>[46]</sup>。

TeA 与 AOH、AME、TEN 等其它链格孢霉毒素共存的相关性较高,并可能与其它食源性毒素共存,需重视其联合毒性作用的研究,目前相关研究较为缺乏。Sauer 等<sup>[71]</sup>用含 AOH、AME、ALT 的饲料混合物处理雏鸡和大鼠 14 d 后无明显毒性症状,而加入 145  $\mu$ g/g 的 TeA 后致死率分别为 50% 和 100%。在 HT29 细胞中 AOH-AME-TeA 混合物引起的 DNA 损伤比用同浓度的 AOH/AME/TeA 单独处理后更严重,表明 TeA 可能与其它链格孢霉毒素产生协同作用<sup>[72]</sup>。与之相反,TeA(1~250  $\mu$ mol/L)与脱氧雪腐镰刀菌烯醇/雪腐镰刀菌烯醇(10  $\mu$ mol/L)共同处理 Caco-2 细胞 24 h 后出现轻微拮抗作用<sup>[67]</sup>,推测与 TeA、DON、NIV 通过竞争同一受体而抑制蛋白质的合成有关。

### 3.3 其它链格孢霉毒素的毒性作用

Bhagat 等<sup>[73]</sup>发现 ATL 对斜纹夜蛾幼虫有致死性,其机制与 ALT 可作为乙酰胆碱酯酶抑制剂引起突触处乙酰胆碱浓度增加有关。此外,ALT 可形成类似对苯二酚结构的氧化产物,与 DNA 发生交联作用,导致 DNA 断裂,然而,是否具有遗传毒性

还需进一步研究<sup>[69]</sup>。

Fleck 等<sup>[3]</sup>提出,以 ATX-Ⅱ 和 STTX-Ⅲ 为代表的茛菪类链格孢霉毒素可能具有比 AOH 和 AME 更强的遗传毒性和诱变性,可通过自身的环氧基团与 DNA 形成加合物,作用于甲酰胺嘧啶-DNA 糖基化酶(FPG)位点,诱导单链/双链 DNA 断裂<sup>[89]</sup>。此外,低浓度 ATX-Ⅱ 可显著抑制 KYSE510 细胞(0.2 μmol/L)和 HT-29 细胞(0.5 μmol/L)的细胞活性,浓度升至 10 μmol/L 时细胞存活率几乎为零,这是因为 ATX-Ⅱ 可上调 CYP1A1 的表达,诱导 ROS 生成,进而产生细胞毒性<sup>[74]</sup>。ATX-Ⅱ 还能降低人结肠上皮细胞(HCEC-1CT)的迁移能力和膜流动性,阻碍细胞运动,破坏肠道细胞屏障<sup>[75]</sup>。Vejdovsky 等<sup>[76]</sup>在 HepG2 细胞中还发现 ATX-Ⅱ(7.3 μmol/L)的 EC<sub>50</sub> 远小于 AOH(51.4 μmol/L),且二者具有协同作用,这和参与调控细胞凋亡的基因 *miR-224*、*miR-29a* 显著上调密切相关。

如表 2 所示,目前关于链格孢霉毒素的毒性研究以体外试验为主,相关的分子机制和作用靶点受食品基质和体内各种因素调节的影响暂不明确,还需对其深入研究。

## 4 结语

链格孢霉毒素作为一种新兴真菌毒素,受到全球各国的广泛关注。本文梳理近十年来有关链格孢霉毒素污染情况和毒性作用的研究发现。链格孢霉毒素污染范围广泛,尤其是在小麦和番茄中污染水平较高,易在机体中被肠道细胞吸收,主要以原型或 I 相代谢物的形式被排出,可引起机体氧化应激、激素紊乱、炎症反应、免疫失调等,部分链格孢霉毒素甚至会破坏 DNA 完整性,产生遗传毒性和潜在致癌性,严重威胁人和动物的健康。然而,目前对链格孢霉毒素的毒性作用研究仍较为缺乏,且多以哺乳动物细胞为试验模型,体内实验较少,而有关其人体暴露水平、毒代动力学过程、毒素间相互作用关系、靶器官及毒性机制等的报道匮乏,无法开展全面的安全性评价,导致其限量标准及相关法规的颁布迟滞,无法进行有效的食品安全监管。因此,亟需通过监测链格孢霉毒素的长期膳食暴露水平,建立生理药代动力学

(PBPK)模型,或结合稳定同位素标记辅助代谢组学等方法,探究其在机体内的代谢过程,同时还可利用组学技术、分子生物学技术和生物信息学等方法,系统研究链格孢霉毒素在不同试验模型中的单一/联合毒性及其作用机理,为进一步丰富其毒理学资料,科学制定其在食品和饲料中的限量标准以及食品安全政策提供理论依据。

## 参 考 文 献

- [1] CHEN A Q, MAO X, SUN Q H, et al. *Alternaria* mycotoxins: An overview of toxicity, metabolism, and analysis in food[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(28): 7817-7830.
- [2] PUNTSCHER H, HANKELE S, TILLMANN K, et al. First insights into *Alternaria* multi-toxin *in vivo* metabolism[J]. Toxicology Letters, 2018, 301: 168-178.
- [3] CRUDO F, VARGA E, AICHINGER G, et al. Co-occurrence and combinatory effects of *Alternaria* mycotoxins and other xenobiotics of food origin: Current scenario and future perspectives [J]. Toxins, 2019, 11(11): 640.
- [4] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (Contam). Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food[J]. EFSA Journal, 2011, 9(10): 2407.
- [5] MARIANNA S S, TERESA G, FRANCESCA G, et al. Contamination of fresh and dried tomato by *Alternaria* toxins in southern Italy[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2019, 36(5): 789-799.
- [6] ZHAO K, SHAO B, YANG D J, et al. Natural occurrence of four *Alternaria* mycotoxins in tomato- and citrus-based foods in China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(1): 343-348.
- [7] FERNÁNDEZ P, ANDREA P. *Alternaria* species and their associated mycotoxins[J]. Methods in Molecular Biology, 2017, 1542: 13-32.
- [8] LI Y P, ZHANG X N, NIE J Y, et al. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in apple and apple products from China[J]. Food Control, 2020, 118:

表 2 典型链格孢霉毒素的毒性作用及机理

Table 2 Toxicity and mechanism of typical <i>Alternaria</i> toxins					参考文献
毒素	试验模型	处理时间	处理浓度	毒性作用及机理	
AOH	HepG2 细胞	24 h	10~50 $\mu\text{mol/L}$	细胞活性降低,抑制 CYP1A1 的表达和酶活性,诱导 ROS 产生刺激 DNA 断裂	[49]
	HT29 细胞	24,48 h	1~50 $\mu\text{mol/L}$	下调 GSTA1、GSTA2、 $\gamma\text{GCL}$ , GSH 减少, GST 活性增加, 通过 Nrf2/ARE 促进 ROS 产生,抑制拓扑异构酶 I、II $\alpha$ 、II $\beta$ 活性,稳定拓扑异构酶 II - DNA 中间产物,增加 DNA 断裂率	[49],[53],[55]
	184A1 细胞	24,48 h	0.001~100 $\mu\text{mol/L}$	改变细胞形态,降低细胞活性,诱导氧化应激,影响 Akt 和 Erk1/2 的表达和 DNA 完整性,细胞周期停滞在 G2/M、S 期,通过金属蛋白酶 2(MMP-2)和 9(MMP-9)影响细胞迁移和黏附	[61]
	KYSE510 细胞	24 h	10~50 $\mu\text{mol/L}$	依赖 AhR 诱导 CYP1A1 的表达,促进 ROS 产生,降低细胞活性和线粒体活性	[49]
	Caco-2 细胞	24,48,72 h	3.125~100 $\mu\text{mol/L}$	细胞活性降低,ROS 和 LPO 增加, DNA 断裂, 上调 IL-8、IL-6 和 IL-1 以及 miR-16、miR-125b、miR-155,引起炎症反应	[77],[78]
	V79 细胞	24 h	5~50 $\mu\text{mol/L}$	诱导 HPRT 突变,细胞周期停滞在 G2/M 期, DNA 断裂	[51]
	HCT116 细胞	24,48 h	10~50 $\mu\text{mol/L}$	caspase 3 和 9、p53、Bcl-2 活性增加, MMP 降低, ROS 增加刺激细胞凋亡	[54]
	A431 细胞	6,16,24,48 h	1~50 $\mu\text{mol/L}$	拓扑异构酶活性降低,抑制 DNA 的松弛与合成,刺激 DNA 双链断裂,产生微核	[55]
	RAW264.7 细胞	6,24,48 h	15~30 $\mu\text{mol/L}$	CD80、CD86、CD-11b、MHCII 活性增加, THF- $\alpha$ 、IL-6 上调, 胞吞能力降低,细胞形状改变	[52]
	THP-1 细胞	24,48 h	10~60 $\mu\text{mol/L}$	上调 CD14、CD11b,下调 CD71、THF- $\alpha$ ,抑制单核细胞向巨噬细胞分化	[60]
	PMK 细胞	6 h	50~500 nmol/L	上调 COX-2、PGE2、EP2、EP4,刺激 cAMP,激活 CREB,诱导细胞增殖	[63]
	NIH/3T3 细胞	24 h	10 $\mu\text{g/mL}$	激活致癌基因 <i>c-ras</i> 和 <i>c-mys</i> ,导致细胞恶性增殖	[57]
	H295R	24 h	0.1~1 000 ng/mL	上调 CYP1A1、CYP17、CYP21、CYP11B2、CYP19、MC2R、HSD3B2,下调 NR0B1,促进孕酮受体表达以及孕酮和孕激素受体结合,增加雌二醇和孕酮合成	[58]
	猪原卵巢颗粒细胞	24 h	0.8~12.8 $\mu\text{mol/L}$	降低 p450 <sub>scc</sub> 、3- $\beta$ -HSD、Gapdh 表达,抑制细胞基础代谢,减少孕酮合成与分泌	[59]
	瑞士白化小鼠	24 h(涂抹皮肤)	12.5~50 $\mu\text{g/只}$	皮肤水肿、增生,引发炎症	[63]
	ICR 雌性小鼠	4 d	1、3、5 mg/kg bw/d	氧化损伤、囊胚期胚胎退化、胎重降低,抑制新生小鼠 CXCL1、IL-1 $\beta$ 和 IL-8 表达,导致免疫失调	[62]
	DBA/2 小鼠	3 d	100~400 mg/kg bw/d	胃痉挛、脑室出血、体重降低、死亡	[45]
	HTC116 细胞	24,48h	10~200 $\mu\text{mol/L}$	促进 ROS 产生,通过线粒体途径促进 PTP 开放,增加 MMP,释放细胞色素 C,激活 caspase3、9,促进 p53 表达,引起细胞凋亡	[50]
	HepG2 细胞	24 h	10~50 $\mu\text{mol/L}$	促进 CYP1A1 表达,诱导 ROS 产生,降低细胞和线粒体活性	[49]



(续表 2)

毒素	试验模型	处理时间	处理浓度	毒性作用及机理	参考文献
TeA	HT29 细胞	24, 48 h	25~200 $\mu\text{mol/L}$	抑制拓扑异构酶 I、II 的活性, 并通过 Nrf2/ARE 途径上调 GSTA1、GSTA2、 $\gamma\text{GCL}$ , ROS 增加, GSH 减少, Nrf2 易位到细胞核, DNA 断裂频率增加	[49], [53], [55]
	KYSE510 细胞	24 h	5~50 $\mu\text{mol/L}$	上调 CYP1A1, 促进 ROS 产生, 损伤 DNA 完整性	[49]
	V79 细胞	24 h	20~40 $\mu\text{mol/L}$	引起 HPRT 基因突变, 细胞周期停滞在 G2/M 期, 损伤 DNA 完整性	[51]
	A431 细胞	48 h	1~50 $\mu\text{mol/L}$	氧化损伤, 抑制拓扑异构酶 I、II $\alpha$ 、II $\beta$ 活性, 促进 DNA 断裂	[55]
	NIH/3T3 细胞	24 h	12.5~50 $\mu\text{g/mL}$	细胞癌变	[57]
	猪原卵巢颗粒细胞	24 h	0.8~12.8 $\mu\text{mol/L}$	下调 CYP11A1、HSD3B, 降低 p450 <sub>sc</sub> , 3- $\beta$ -HSD 表达, 减少孕酮合成	[59]
	瑞士白化小鼠	10 个月	100 mg/kg bw d	发育不良, 细胞核异性、极性紊乱, 核质比增加	[46]
	妊娠期金仓鼠	1 次(腹腔)	200 mg/kg bw	内脏坏死、嗜睡、呼吸困难、后肢无力、胎重降低	[47]
	猪原卵巢颗粒细胞	24 h	6.4~100 $\mu\text{mol/L}$	抑制细胞活性	[59]
	Caco-2	48 h	200~250 $\mu\text{mol/L}$	降低细胞活力和线粒体活性	[67]
	NH/3T3 细胞	24, 48, 72 h	12.5~400 $\mu\text{g/mL}$	降低细胞活力	[68]
	CHL 细胞	72 h	12.5~400 $\mu\text{g/mL}$	抑制核糖体的活性, 阻碍蛋白质的合成和释放	
	大鼠	1 次(静脉、口服)	398 mg/kg bw	呕吐、腹泻、胃肠道出血、心跳加速、腹腔糜烂性出血、死亡	[69]
	狗		25~50 mg/kg bw		
	猴子	3 次(静脉、口服)	20 mg/kg bw	发育不良, 食管黏膜上皮细胞癌变	[46]
ATX-II	瑞士白化小鼠	10 个月	25 mg/kg bw/d	体重降低、心肌水肿、脾脏糜烂	[69]
	白来航鸡	21 d	1.25~2.5 mg/kg bw/d	降低细胞活力, 下调 miR-1323、miR-5583_5p, 诱导 CYP1A1 表达, 刺激 ROS 产生	[49]
HepG2 细胞		24 h	0.5~50 $\mu\text{mol/L}$	形成 DNA 加合物作用于 Fpg 酶超敏感位点, 抑制拓扑异构酶活性, 增加 DNA 断裂频率	[51], [79]
	HT29 细胞	24 h	0.5~20 $\mu\text{mol/L}$	抑制拓扑异构酶 II 活性, 激活 p53, 诱导细胞周期停滞及 DNA 断裂	[76]
THP-1 细胞		2 h	0.1~1 $\mu\text{mol/L}$	产生 ROS 引起脂质过氧化, 增加线粒体超氧化物, 下调 NF- $\kappa\text{B}$ , 影响线粒体功能	[80]
	V79 细胞	24 h	0.5~0.75 $\mu\text{mol/L}$	与 DNA 形成加合物, 诱导 HPRT 突变, 增加 DNA 断裂	[51]
CD-1 小鼠		3 d	200 mg/kg bw	致死	[45]
	V79 细胞	24 h	0.25~5 $\mu\text{mol/L}$	抑制 DNA 拓拓扑异构酶 II 活性, 形成 DNA 加合物, 引起 HPRT 基因位点突变, 影响核酸切除修复, 损伤 DNA 完整性	[79]

- 107354.
- [9] MIKUŠOVÁ P, SÚLYOK M, ŠROBÁROVÁ A. *Alternaria* mycotoxins associated with grape berries in vitro and in situ[J]. *Biologia*, 2014, 69(2): 173–177.
- [10] GAMBACORTA L, MAGISTÀ D, PERRONE G, et al. Co-occurrence of toxigenic moulds, aflatoxins, ochratoxin A, *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins in fresh sweet peppers (*Capsicum annuum*) and their processed products[J]. *World Mycotoxin Journal*, 2018, 11(1): 159–174.
- [11] LÓPEZ P, VENEMA D, MOL H, et al. *Alternaria* toxins and conjugates in selected foods in the Netherlands[J]. *Food Control*, 2016, 69: 153–159.
- [12] BANSAL M, SAIFI I J, DEV I, et al. Occurrence of alternariol and alternariolmonomethyl ether in edible oils: Their thermal stability and intake assessment in state of Uttar Pradesh, India[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(3): 1124–1131.
- [13] BROGGI L, REYNOSO C, RESNIK S, et al. Occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in beverages from the Entre Rios Province market, Argentina[J]. *Mycotoxin Research*, 2013, 29(1): 17–22.
- [14] MUJAHID C, SAVOY M, BASLÉ Q, et al. Levels of *Alternaria* toxins in selected food commodities including green coffee[J]. *Toxins*, 2020, 12(9): 595.
- [15] ARCELLA D, ESKOLA M, GÓMEZ RUIZ J A. Dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population[J]. *EFSA Journal*, 2016, 14(12): 4564.
- [16] LORENZINI M, ZAPPAROLI G. Characterization and pathogenicity of *Alternaria* spp. strains associated with grape bunch rot during post-harvest withering[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 186(1): 1–5.
- [17] 何玲, 秦忠雪, 任琳, 等. 四川省市售小麦及其制品中链格孢霉毒素污染状况调查[J]. *预防医学情报杂志*, 2020, 36(11): 1433–1437.
- HE L, QIN Z X, REN L, et al. Investigation on contamination of *Alternaria* toxins from wheat and its products sold in Sichuan province [J]. *Journal of Preventive Medicine Information*, 2020, 36(11): 1433–1437.
- [18] SCHEIBENZUBER S, DICK F, ASAM S, et al. Analysis of 13 *Alternaria* mycotoxins including modified forms in beer[J]. *Mycotoxin Research*, 2021(6): 1–11.
- [19] SIEGEL D, FEIST M, PROSKE M, et al. Degradation of the *Alternaria* mycotoxins alternariol, alternariol monomethyl ether, and altenuene upon bread baking[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(17): 9622–9630.
- [20] UHLIG S, ERIKSEN G, HOFGAARD I, et al. Faces of a changing climate: Semi-quantitative multi-mycotoxin analysis of grain grown in exceptional climatic conditions in Norway[J]. *Toxins*, 2013, 5(10): 1682–1697.
- [21] BABIČ J, TAVČARKALCHER G, CELAR F A, et al. Occurrence of *Alternaria* and other toxins in cereal grains intended for animal feeding collected in Slovenia: A three-year study[J]. *Toxins*, 2021, 13(5): 304.
- [22] QIAO X T, YIN J, YANG Y J, et al. Determination of *Alternaria* mycotoxins in fresh sweet cherries and cherry-based products: Method validation and occurrence[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2018, 66(44): 11846–11853.
- [23] CARBALLO D, FERRER E, BERRADA H. Dietary exposure to mycotoxins through alcoholic and non-alcoholic beverages in Valencia, Spain[J]. *Toxins*, 2021, 13(7): 438.
- [24] 张洁, 王谢, 马青青, 等. 谷物中4种交链孢毒素污染情况及检验方法探讨[J]. *江苏预防医学*, 2021, 32(2): 143–144, 152.
- ZHANG J, WANG X, MA Q Q, et al. Contamination status and discussion of detection methods of 4 kinds of *Alternaria* toxins in cereals [J]. *Jiangsu Journal of Preventive Medicine*, 2021, 32(2): 143–144, 152.
- [25] CASTAARES E, PAVICICH M A, DINOLFO M I, et al. Natural occurrence of *Alternaria* mycotoxins in malting barley grains in the main producing region of Argentina[J]. *Journal of Food Quality*, 2016, 100(3): 1004–1011.
- [26] GOTTHARDT M, ASAM S, GUNKEL K, et al. Quantitation of six *Alternaria* toxins in infant foods applying stable isotope labeled standards[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 109.
- [27] WALRAVENS J, MIKULA H, RYCHLIK M, et al. Validated UPLC-MS/MS methods to quantitate free

- and conjugated *Alternaria* toxins in commercially available tomato products, fruit and vegetable juices in Belgium[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(24): 5101–5109.
- [28] SUN D L, QIU N N, ZHOU S, et al. Development of sensitive and reliable UPLC–MS/MS methods for food analysis of emerging mycotoxins in China total diet study[J]. *Toxins*, 2019, 11(3): 166.
- [29] HANNES P, MARY–LIIS K, PHILIPP S, et al. Tracking emerging mycotoxins in food: development of an LC–MS/MS method for free and modified *Alternaria* toxins[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(18): 4481–4494.
- [30] PRELLE A, SPADARO D, GARIBALDI A, et al. A new method for detection of five *Alternaria* toxins in food matrices based on LC–APCI–MS[J]. *Food Chemistry*, 2013, 140(1/2): 161–167.
- [31] JI X F, XIAO Y P, WANG W, et al. Mycotoxins in cereal–based infant foods marketed in China: Occurrence and risk assessment[J]. *Food Control*, 2022, 138: 108998.
- [32] PUNTSCHER H, COBANKOVIC I, MARKO D, et al. Quantitation of free and modified *Alternaria* mycotoxins in European food products by LC–MS/MS[J]. *Food Control*, 2019, 102: 157–165.
- [33] QIAO X T, LI G, ZHANG J, et al. Urinary analysis reveals high *Alternaria* mycotoxins exposure in the general population from Beijing, China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2022, 118: 122–129.
- [34] 赵凯. 食品中交链孢毒素污染、生物利用及风险评估研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2015.
- ZHAO K. Natural occurrence, bioavailability and risk assessment of *Alternaria* mycotoxins in foods[D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2015.
- [35] TIESSEN C, ELLMER D, MIKULA H, et al. Impact of phase I metabolism on uptake, oxidative stress and genotoxicity of the emerging mycotoxin alternariol and its monomethyl ether in esophageal cells[J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(3): 1213–1226.
- [36] SOUKUP S T, KOHN B N, PFEIFFER E, et al. Sulfoglucosides as novel modified forms of the mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(46): 8892–8901.
- [37] SCHEIBENZUBER S, HOFFMANN T, EFFENBERGER I, et al. Enzymatic synthesis of modified *Alternaria* mycotoxins using a whole–cell biotransformation system[J]. *Toxins*, 2020, 12(4): 264.
- [38] SCHUCHARDT S, ZIEMANN C, HANSEN T. Combined toxicokinetic and *in vivo* genotoxicity study on *Alternaria* toxins[J]. *EFSA Supporting Publications*, 2014, 11(11). DOI:10.2903/sp.efsa.2014.EN–679.
- [39] PFEIFFER E, HERRMANN C, ALTEMÖLLER M, et al. Oxidative *in vitro* metabolism of the *Alternaria* toxins altenuene and isoaltenuene[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 53(4): 452–459.
- [40] LEMKE A, BURKHARDT B, BUNZEL D, et al. *Alternaria* toxins of the alternariol type are not metabolised by human faecal microbiota[J]. *World Mycotoxin Journal*, 2015, 9(1): 1–10.
- [41] JAROLIM K, FAVERO G D, ELLMER D, et al. Dual effectiveness of *Alternaria* but not *Fusarium* mycotoxins against human topoisomerase II and bacterial gyrase[J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(4): 2007–2016.
- [42] FLECK S C, PFEIFFER E, METZLER M. Permeation and metabolism of *Alternaria* mycotoxins with perylene quinone structure in cultured Caco–2 cells[J]. *Mycotoxin Research*, 2014, 30(1): 17–23.
- [43] CRUDO F, AICHINGER G, MIHAJLOVIC J, et al. Gut microbiota and undigested food constituents modify toxin composition and suppress the genotoxicity of a naturally occurring mixture of *Alternaria* toxins *in vitro*[J]. *Archives of Toxicology*, 2020, 94(10): 3541–3552.
- [44] 李佳欣, 李道亮, 周鸿媛, 等. 荧光光谱法研究链格孢霉毒素 TeA 与血清白蛋白的互作机理[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(8): 288–295.
- LI J X, LI D L, ZHOU H Y, et al. Interaction mechanism between *Alternaria* mycotoxins TeA and serum albumin by fluorescence spectroscopy[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(8): 288–295.
- [45] PERO R W, POSNER H, BLOIS M, et al. Toxicity of metabolites produced by the ‘*Alternaria*’[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1973, 4: 87–94.
- [46] YEKELER H, BITMIŞ K, OZÇELİK N, et al. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on

- esophagus of mice by light and electron microscopy [J]. *Toxicologic Pathology*, 2001, 29(4): 492.
- [47] POLLOCK G A, DISABATINO C E, HEIMSCHE C, et al. The subchronic toxicity and teratogenicity of alternariol monomethyl ether produced by *Alternaria solani* [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 1982, 20(6): 899–902.
- [48] FERNÁNDEZ-BLANCO C, FONT G, RUIZ M. Role of quercetin on Caco-2 cells against cytotoxic effects of alternariol and alternariol monomethyl ether [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2016, 89: 60–66.
- [49] PAHLKE G, TIESSEN C, DOMNANICH K, et al. Impact of *Alternaria* toxins on CYP1A1 expression in different human tumor cells and relevance for genotoxicity [J]. *Toxicology Letters*, 2016, 240 (1): 93–104.
- [50] BENSASSI F, GALLERNE C, DEIN O, et al. Mechanism of Alternariol monomethyl ether-induced mitochondrial apoptosis in human colon carcinoma cells [J]. *Toxicology*, 2011, 290(2/3): 231–241.
- [51] FLECK S C, BURKHARDT B, PFEIFFER E, et al. *Alternaria* toxins: Alternotoxin II is a much stronger mutagen and DNA strand breaking mycotoxin than alternariol and its methyl ether in cultured mammalian cells [J]. *Toxicology Letters*, 2012, 214 (1): 27–32.
- [52] SOLHAUG A, WISBECH C, CHRISTOFFERSEN T, et al. The mycotoxin alternariol induces DNA damage and modify macrophage phenotype and inflammatory responses [J]. *Toxicology Letters*, 2015, 239(1): 9–21.
- [53] TIESSEN C, FEHR M, SCHWARZ C, et al. Modulation of the cellular redox status by the *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether [J]. *Toxicology Letters*, 2013, 216(1): 23–30.
- [54] BENSASSI F, GALLERNE C, DEIN O, et al. Cell death induced by the *Alternaria* mycotoxin Alternariol [J]. *Toxicology in Vitro*, 2012, 26(6): 915–923.
- [55] FEHR M, PAHLKE G, FRITZ J, et al. Alternariol acts as a topoisomerase poison, preferentially affecting the II $\alpha$  isoform [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2009, 53(4): 441–451.
- [56] SOLHAUG A, ERIKSEN G S, HOLME J A. Mechanisms of action and toxicity of the mycotoxin alternariol: A review [J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2016, 119(6): 533–539.
- [57] LIU G T, QIAN Y Z, ZHANG P, et al. Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer [J]. *Chinese Medical Journal*, 1992, 105(5): 394.
- [58] FRIZZELL C, NDOSSI D, KALAYOU S, et al. An *in vitro* investigation of endocrine disrupting effects of the mycotoxin alternariol [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, 271(1): 64–71.
- [59] TIEMANN U, TOMEK W, SCHNEIDER F, et al. The mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether negatively affect progesterone synthesis in porcine granulosa cells *in vitro* [J]. *Toxicology Letters*, 2009, 186(2): 139–145.
- [60] SOLHAUG A, KARLSEN L M, HOLME J A, et al. Immunomodulatory effects of individual and combined mycotoxins in the THP-1 cell line [J]. *Toxicology in Vitro*, 2016, 36: 120–132.
- [61] KOWALSKA K, HABROWSKA GÓRCZYŃSKA D E, KOZIEŁ M J, et al. Mycotoxin alternariol (AOH) affects viability and motility of mammary breast epithelial cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 696.
- [62] HUANG C H, WANG F T, CHAN W H. Alternariol exerts embryotoxic and immunotoxic effects on mouse blastocysts through ROS-mediated apoptotic processes [J]. *Toxicology Research*, 2021, 10 (4): 719–732.
- [63] BANSAL M, SINGH N, ALAM S, et al. Alternariol induced proliferation in primary mouse keratinocytes and inflammation in mouse skin is regulated via PGE2/EP2/cAMP/p-CREB signaling pathway [J]. *Toxicology*, 2019, 412: 79–88.
- [64] BENSASSI F, GALLERNE C, OSSAMA S E D, et al. Combined effects of alternariols mixture on human colon carcinoma cells [J]. *Toxicology Methods*, 2015, 25(1): 56–62.
- [65] AICHINGER G, PANTAZI F, MARKO D. Combinatory estrogenic effects of bisphenol A in mixtures with alternariol and zearalenone in human endometrial cells [J]. *Toxicology Letters*, 2020, 319: 242–249.
- [66] VEJDOVSZKY K, HAHN K, BRAUN D, et al. Synergistic estrogenic effects of *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins *in vitro* [J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(3): 1447–1460.



- [67] VEJDOVSZKY K, WARTH B, SULYOK M, et al. Non-synergistic cytotoxic effects of *Fusarium* and *Alternaria* toxin combinations in Caco-2 cells [J]. Toxicology Letters, 2016, 241: 1-8.
- [68] BING Z, SHENG Q. Environmental, genetic and cellular toxicity of tenuazonic acid isolated from *Alternaria alternata* [J]. African Journal of biotechnology, 2008, 7(8): 29-34.
- [69] FRAEYMAN S, CROUBELS S, DEVREESE M, et al. Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: Occurrence, Toxicity and Toxicokinetics [J]. Toxins, 2017, 9(7): 228.
- [70] 吴春生, 马良, 江涛, 等. 链格孢霉毒素细交链格孢菌酮酸的研究进展 [J]. 食品科学, 2014, 35(19): 295-301.
- WU C S, MA L, JIANG T, et al. A review on tenuazonic acid, a toxic produced by *Alternaria* [J]. Food Science, 2014, 35(19): 295-301.
- [71] SAUER D B, SEITZ L M, BURROUGHS R, et al. Toxicity of *Alternaria* metabolites found in weathered sorghum grain at harvest [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1978, 26(6): 1380.
- [72] SCHWARZ C, KREUTZER M, MARKO D. Minor contribution of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid to the genotoxic properties of extracts from *Alternaria alternata* infested rice [J]. Toxicology Letters, 2012, 214(1): 46-52.
- [73] BHAGAT J, KAUR A, KAUR R, et al. Cholinesterase inhibitor (Altenuene) from an endophytic fungus *Alternaria alternata*: optimization, purification and characterization [J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 121(4): 1015-25.
- [74] SOLHUAG A, CATHRINE W, CHRISTOFFERSEN T E, et al. The mycotoxin alternariol induces DNA damage and differentiation of primary human macrophages [J]. Toxicology Letters, 2015, 238(2): S219-S220.
- [75] HOHENBICHLER J, SPINDLER V, PAHLKE G, et al. Immunomodulatory potential of combined *Alternaria alternata* mycotoxins in non-cancerous epithelial colon cells [J]. Toxicology Letters, 2021, 350: 160.
- [76] VEJDOVSZKY K, SACK M, JAROLIM K, et al. *In vitro* combinatory effects of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and altertoxin II and potentially involved miRNAs [J]. Toxicology Letters, 2017, 267: 45-52.
- [77] SCHMUTZ C, CENK E, MARKO D. The *Alternaria* mycotoxin alternariol triggers the immune response of IL-1 $\beta$ -stimulated, differentiated Caco-2 cells [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2019, 63(20): 1900341.
- [78] CELIA F, FONT G, RUIZ M. Alternariol-induced DNA damage, disturbance of antioxidant capacity and oxidative stress in Caco-2 cells [J]. Toxicology Letters, 2016, 258(S): S249.
- [79] FLECK S C, F SAUTER, PFEIFFER E, et al. DNA damage and repair kinetics of the *Alternaria* mycotoxins alternariol, altertoxin II and stemphytoxin III in cultured cells [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2016, 799: 27-34.
- [80] FAVERO G D, HOHENBICHLER J, MAYER R M, et al. Mycotoxin altertoxin II induces lipid peroxidation connecting mitochondrial stress response to NF- $\kappa$ B inhibition in THP-1 macrophages [J]. Chemical Research in Toxicology, 2020, 33(2): 492-504.

### Advanced Progress in Contamination Status and Toxicological Properties of Typical *Alternaria* Toxins

Yang Yulian<sup>1</sup>, Zhou Hongyuan<sup>1,2</sup>, Liu Chongchong<sup>1</sup>, Zhang Yuhao<sup>1,2</sup>, Ma Liang<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715

<sup>2</sup>Chongqing Key Laboratory of Speciality Food Co-Built by Sichuan and Chongqing, Chongqing 400715)

**Abstract** *Alternaria* toxins, as the secondary metabolites produced by *Alternaria* species, are widely contaminated in crops and agricultural products such as cereals, fruits, vegetables, nuts, oil crops, etc., which shows different degrees of acute toxicity, genetic toxicity, reproductive and developmental toxicity to humans and animals. However, the available

studies of its contamination level, dietary exposure and toxic effects are still relatively limited and short of systematization, which making it difficult to carry out a comprehensive risk assessment. Therefore, this review systematically demonstrated the contamination status and toxicological profiles of typical *alternaria* toxins, aiming to provide a more comprehensive and systematic theoretical basis for the further assessment of exposure level of *alternaria* toxins, comprehensive safety evaluation, and scientific formulation of limit standards and regulations.

**Keywords** *Alternaria* toxins; contamination; limit standard; toxicokinetic; toxic effect